Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 3, Fall 2024, p. 523-536

Evaluating the Effect of the Rootstock on the Resistance of Some Grafted Pear Cultivars to the Fire Blight Disease

J. Samimi[1], Y. Selahvarzi[2*], A. Tehranifar[3], N. Beikzadeh[4]

1, 2 and 3- Ph.D. Student, Assistant Professor and Professor, Department of Horticultural Science and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: Selahvarzi@um.ac.ir)
4- Assistant Professor of Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

Received: 23-07-2023 Revised: 01-01-2024 Accepted: 11-04-2024 Available Online: 14-04-2024	**How to cite this article:** Samimi, J., Selahvarzi, Y., Tehranifar, A., & Beikzadeh, N. (2024). Evaluating the effect of the rootstock on the resistance of some grafted pear cultivars to the fire blight disease. *Journal of Horticultural Science*, *38*(3), 523-536. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.83573.1277

Introduction

Pear (*Pyrus communis* L.) is a cold-climate fruit tree belonging to the Rosaceae family, and it is native to Western Asia and Eastern Europe. Fire blight disease is caused by the gram-negative bacterium *Erwinia amylovora*, and it is considered one of the most damaging and harmful diseases in pome fruit trees in cold and temperate regions worldwide. The most sensitive plant organ in pome fruit trees to this disease is flowers. Fire blight disease has five important stages, from initial infection to the final death of the tree trunk. These five stages include blossom blight, fruit blight, leaf blight, main branches, and trunk blight, and finally, root blight. The first and most important stage of pathogenicity in fire blight disease begins in early spring under high humidity, causing the burning and death of the flower.

Materials and Methods

The Rootstock used in this experiment were Dargazi and Pyrodwarf, and the cultivars studied were Koshia and Dargazi. The experiment was conducted in two conditions, orchard and greenhouse. In the orchard, a factorial experiment was carried out in a completely randomized block design with five repetitions. The factors studied were Rootstocks (Dargazi and Pyrodwarf) and cultivars (Koshia and Dargazi). In the greenhouse, a factorial experiment was carried out in a completely randomized design with three repetitions. The factors studied were Rootstocks (Dargazi and Pyrodwarf) and cultivars (Dargazi and Kosha). Gardner scale was used to measure the severity of fire blight infection. In addition, the levels of sucrose, sorbitol, and pH in leaf tissue were measured. The sucrose content in the leaf tissue of Koshia/Pyrodwarf Rootstock increased from day 0 to 6 and reached its highest level (10%) on the 6th day, then decreased to 5% on the 12th day. In the Dargazi/Pyrodwarf base, sucrose levels increased from day 0 to 6 and reached its highest level (8%) on the 6th day, then decreased to 5% on the 12th day. In the Dargazi/Dargazi base, sucrose levels increased from day 0 to 6 and reached its highest level (7%) on the 6th day, then decreased to 4% on the 12th day. The sorbitol content in the leaf tissue of Koshia/Pyrodwarf base increased from day 0 to 6 and reached its highest level (2%) on the 6th day, then decreased to 1% on the 12th day. In the Dargazi/Pyrodwarf Rootstock, sorbitol levels increased from day 0 to 6 and reached its highest level (1.5%) on the 6th day, then decreased to 1% on the 12th day. In the Dargazi/Dargazi Rootstock, sorbitol levels increased from day 0 to 6 and reached its highest level (1%) on the 6th day, then decreased to 0.5% on the 12th day. On the other hand, the pH of the leaf tissue in the Dargazi/Pyrodwarf base remained constant at 6.2 from day 0 to 12 and increased to 7.4 on the 12th day.

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.83573.1277

Results and Discussion

The rootstock used in this experiment were Dargazi and Pyrodwarf, and the cultivars studied were Koshia and Dargazi. The experiment was conducted in two conditions, orchard and greenhouse. In the orchard, a factorial experiment was carried out in a completely randomized block design with five repetitions. The factors studied were rootstocks (Dargazi and Pyrodwarf) and cultivars (Koshia and Dargazi). In the greenhouse, a factorial experiment was carried out in a completely randomized design with three repetitions. The factors studied were Rootstocks (Dargazi and Pyrodwarf) and cultivars (Dargazi and Koshia). Gardner scale was used to measure the severity of fire blight infection. In addition, the levels of sucrose, sorbitol, and pH in leaf tissue were measured. The sucrose content in the leaf tissue of Koshia/Pyrodwarf Rootstocks increased from day 0 to 6 and reached its highest level (10%) on the 6th day, then decreased to 5% on the 12th day. In the Dargazi/Pyrodwarf Rootstock, sucrose levels increased from day 0 to 6 and reached its highest level (8%) on the 6th day, then decreased to 5% on the 12th day. In the Dargazi/Dargazi Rootstock, sucrose levels increased from day 0 to 6 and reached its highest level (7%) on the 6th day, then decreased to 4% on the 12th day. The sorbitol content in the leaf tissue of Koshia/Pyrodwarf Rootstock increased from day 0 to 6 and reached its highest level (2%) on the 6th day, then decreased to 1% on the 12th day. In the Dargazi/Pyrodwarf Rootstock, sorbitol levels increased from day 0 to 6 and reached its highest level (1.5%) on the 6th day, then decreased to 1% on the 12th day. In the Dargazi/Dargazi Rootstock, sorbitol levels increased from day 0 to 6 and reached its highest level (1%) on the 6th day, then decreased to 0.5% on the 12th day. On the other hand, the pH of the leaf tissue in the Dargazi/Pyrodwarf Rootstock remained constant at 6.2 from day 0 to 12 and increased to 7.4 on the 12th day. The collected data from both orchard and greenhouse experiments were analyzed to determine the effects of Rootstock and cultivar on fire blight resistance.

Conclusion

The results showed that the combination of Koshia/Dargaz had higher resistance to fire blight compared to Koshia/Pyrodwarf. Additionally, the pH and carbohydrate content in the leaf tissue of the rootstock affected the growth and proliferation of fire blight bacteria. This study demonstrated varying levels of resistance to fire blight among the studied combinations, indicating significant potential for breeding and improving pear resistance to this disease. The Dargazi cultivar exhibited very high resistance to fire blight in both orchard and greenhouse conditions. Overall, the resistance of the Dargazi rootstock contributed to the resistance of the sensitive Koshia cultivar.

Keywords: Cultivar, Fire blight disease, Gardner scale, Rootstock, USDA system

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۵۳۶-۵۲۳

ارزیابی اثر پایه بر میزان مقاومت برخی ارقام گلابی پیوندی به بیماری آتشک

جواد صمیمی رباط[۱]- یحیی سلاح ورزی[۲]*- علی تهرانی فر[۳]- ناصر بیک زاده[٤]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۳

چکیده

باکتری عامل بیماری آتشک (*Erwinia amylovora*) یکی از بزرگترین چالش‌ها در تولید میوه گلابی است و فقدان روش‌های کنترل مؤثر، بر نیاز به ارقام مقاوم به این بیماری تأکید می‌کند. بنابراین، آزمایشات تعیین سطوح حساسیت برای ایجاد برنامه‌های اصلاح نژادی که مقاومت در برابر این بیماری را تضمین کند، ضروری است. این مطالعه با هدف تعیین تأثیر پایه بر میزان مقاومت ارقام گلابی پیوندی به بیماری آتشک و بررسی اثر انتقال مقاومت یا حساسیت به بیماری از پایه‌های مقاوم به ارقام گلابی با سنجش سیستم USDA در باغات گلابی آستان قدس رضوی و باغات نیشابور با دو رقم گلابی 'درگزی' و 'کوشیا' پیوند شده بر روی دو پایه ('درگزی' و 'پیردوارف') اجرا شد، و مقیاس گاردنر نیز بر روی نهال‌های یکساله در گلخانه بررسی شد، همچنین مجموع قندهای سوربیتول، ساکارز و pH عصاره برگی در روزهای صفر تا ۱۸ پس از آلودگی طی چهار مرحله اندازه‌گیری شد. با القا باکتری مقدار قندها از روز ۶ تا ۱۲ پس از آلودگی در رقم و پایه 'کوشیا/ 'پیردوارف' از ۳۰ به ۲۰ میلی‌گرم (۳۳ درصد کاهش قندها) ولی در رقم و پایه 'کوشیا/'درگزی' از ۳۵ به ۲۵ میلی‌گرم (۲۹ درصد کاهش قندها) و در دو رقم و پایه 'درگزی/'درگزی' و 'درگزی/'پیردوارف' ثابت ماند. در مورد pH هم، در نهال‌ها با رقم 'کوشیا' پیوند شده روی پایه 'درگزی' نیز این روند مشاهده شد. به این ترتیب pH در روزهای صفر، ۳، ۶ و ۱۲ به‌ترتیب برابر ۵/۵، ۶/۵، ۵/۳ و ۵/۲ اندازه‌گیری شد. این در حالی است که در بافت برگ‌های ارقام و پایه‌های 'درگزی/'پیردوارف' و 'درگزی/'درگزی' این مقدار به‌ترتیب ۵/۵ و ۵/۶ و این روند طی روزهای مختلف تقریبا ثابت بود. نتایج نشان داد که پایه 'درگزی' تا حدودی اثر مقاومت خود را بر روی رقم حساس 'کوشیا' گذاشت، به‌طوری‌که میزان مقاومت رقم و پایه 'کوشیا/'درگزی' بیشتر از میزان مقاومت رقم و پایه 'کوشیا/'پیردوارف' بود. بطور کلی طبق نتایج بدست آمده احتمال می‌رود که پایه مقاوم، مقاومت به بیماری آتشک را تا حدودی به ارقام حساس منتقل نموده است. بنابراین در برنامه به‌زراعی گلابی به‌منظور مقاومت به بیماری آتشک می‌توان از پایه مقاوم به بیماری آتشک استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: بیماری آتشک، پایه، رقم، سیستم USDA، مقیاس گاردنر

مقدمه

گلابی (*Pyrus communis* L.) از درختان میوه سردسیری، و متعلق به خانواده رزاسه بوده و بومی آسیای غربی و اروپای شرقی می باشد (Stošić *et al.*, 2021). بیماری آتشک توسط باکتری گرم منفی *Erwinia amylovora* ایجاد می‌شود و یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خسارت‌زا و زیان‌آور در درختان میوه دانه‌دار مناطق سردسیر و معتدله در جهان محسوب می‌شود (Choi *et al.*, 2019; Dagher *et al.*, 2020). حساس‌ترین اندام گیاهی درختان دانه‌دار، نسبت به این بیماری گل‌ها هستند (Mikiciński *et al.*, 2020). بیماری آتشک دارای ۵ مرحله مهم جهت آلوده سازی اولیه تا مرگ نهایی تنه درخت می‌باشد که این پنج مرحله به‌ترتیب شامل سوختگی شکوفه، میوه، برگ، شاخه اصلی و در نهایت مرگ کامل تنه درخت می‌شود. اولین و مهمترین مرحله بیماری‌زایی در بیماری آتشک در اوائل فصل بهار در رطوبت بالا با سوختگی و مرگ شکوفه که مهمترین منبع ورود عامل بیماری به گیاه محسوب می‌شود شروع می‌گردد، زیرا شکوفه سرشار از مواد غذایی مورد نیاز باکتری و روزنه خوبی برای ورود عامل بیماری است به‌دلیل اینکه سرتاسر کلاله پوشیده از بافت‌های کرکی است، سلول‌های واقع در پایه این کرک‌ها

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار و استاد گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Selahvarzi@um.ac.ir)
۴- استادیار مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران
https://doi.org/10.22067/jhs.2024.83573.1277

مایعی سرشار از مواد غذایی ترشح می‌کنند که باکتری‌های ساکن در آن‌ها از این مایع به‌عنوان غذا برای رشد استفاده می‌کنند (Jakab-Ilyefalvi *et al.*, 2012). شناخت علل شیوع بیماری‌های باکتریایی به‌ویژه آن‌هایی که در درختان ایجاد بلایت، نکروز و حالت سوختگی می‌کنند بسیار ضروری به‌نظر می‌رسد (Khan *et al.*, 2012). این بیماری بافت میوه، برگ، اندام هوایی و گل را آلوده می‌کند، که یک بیماری پیچیده است و تمام چرخه این بیماری در ارتباط نزدیک با گیاه میزبان سپری می‌شود. که قسمت‌های آلوده گیاه باعث تراوش مواد چسبناک و کهربایی حاوی باکتری از سطح آلوده می‌شود (Doolotkeldieva & Bobusheva, 2016). بیشترین خسارت بیماری در درختان گلابی و پس از آن برای سایر درختان دانه‌دار گزارش شده است (Aleksandrova & Dimitrova, 2021; Abdollahi *et al.*, 2004; Azarabadi *et al.*, 2017; Seidghasemi *et al.*, 2014). تعیین حساسیت پایه‌های درختی از اساسی‌ترین مراحل برای کنترل و کاهش بیماری آتشک است. چراکه به عقیده بسیاری از محققان، یکی از مؤثرترین و اقتصادی‌ترین روش های شناخته شده برای کنترل بیماری‌های گیاهی، تولید و کاشت ارقام و پایه‌های متحمل و مقاوم است. به‌همین دلیل استفاده از ارقام مقاوم در برابر آتشک ضروری به نظر می‌رسد. استفاده از ارقام مقاوم به بیماری آتشک و یا مقاوم کردن ارقام بومی که در هر منطقه کشت می‌شود است، نه تنها به‌طور طبیعی باعث کاهش آلودگی میکروبی در باغات می شود، بلکه هزینه سایر روش‌های مبارزه به بیماری را به‌طور وسیعی کاهش می‌دهد (van der Zwet & Korba *et al.*, 2008; Kei, 1979). با توجه به مطالعات صورت گرفته استفاده از ارقام مقاوم یکی از مهمترین راه‌کارهای توصیه شده برای مبارزه با این بیماری می‌باشد، به‌همین دلیل برای ما مهم است بدانیم که آیا می‌شود از این ارقام به‌عنوان پایه جهت کنترل بیماری آتشک استفاده کرد، به‌عبارت دیگر آیا این فرض را می‌توان اثبات کرد که استفاده از این ارقام به‌عنوان پایه‌هایی که نسبت به بیماری آتشک مقاومت نسبتا خوبی نشان داده مقاومت به بیماری را به ارقام پیوند شده حساس که کیفیت میوه بالاتری دارند القا نموده و تا حد قابل قبولی از حساسیت آنها نسبت به بیماری بکاهند. یکی از روش‌های تعیین خسارت بیماری در باغات سیستم استاندارد USDA است که توسط وزارت کشاورزی ایالات متحده آمریکا پیشنهاد و مورد اجرا قرار گرفته است (Van Der Zwet & Keil, 1979).

بر این اساس یک سیستم درجه‌بندی ساده برای برآورد میزان شدت آلودگی بنام سیستم گروه بندی USDA در برنامه‌های اصلاحی ارقام مختلف درختان میوه گلابی به بیمار آتشک ایجاد شده است، که این سیستم درجه بندی به‌صورت نزولی بوده و از ۱۰ تا ۱ می‌باشد. (Salcedo & Matta, 2000; Vander Zevit *et al.*, 1970; Vander Zevit & Keli, 1979). همچنین از این روش برای ارزیابی بیماری آتشک در ارقام سیب نیز استفاده شده است، که پس از ارزیابی ۸۴ رقم سیب در ایالت میشیگان آمریکا با سیستم سنجش USDA بیان شد که بین این ارقام از لحاظ شدت بیماری اختلاف معنی‌داری وجود دارد (Thomas & Jones, 1992).

در آزمایش مشابه دیگری، و برای ارقام سیب در ایالت میشیگان با استفاده از این روش، شدت آلودگی ارقام سیب به بیماری باکتریایی آتشک مورد سنجش قرار گرفت (Jones & Thomas, 1992). برای ارزیابی و تعیین پیشرفت بیماری و شدت خسارت آلودگی بیماری در باغات گلابی در مقدونیه در خصوص بیماری آتشک با استفاده از روش USDA اثبات شد، که میزان پیشرفت اولیه علائم و همچنین میزان خسارت به هر رقمی از درختان گلابی چه میزان است. بیشترین میزان خسارت در باغات متراکم گلابی و بر روی ارقام پیوندی مشاهده شد (Ristevski & Ristevska, 1995). مقیاس گاردنر که اساس آن اندازه‌گیری درصد بخش هوایی بلایت شده نهال‌های گلابی کشت شده در گلدان است، به‌عنوان یکی از روش-های متداول جهت تعیین میزان حساسیت ارقام پیوند شده به آتشک می‌باشد. بر طبق این مقیاس، درصد بخش هوایی بلایت شده نهال‌ها پس از تلقیح از طریق محاسبه بخش بلایت شده نسبت به بخش سالم باقیمانده محاسبه و تعیین می‌شود (Şahin *et al.*, 2020). باکتری *E. amylovora* با مصرف کربوهیدرات‌ها انرژی خود را تأمین می‌کند و افزایش کربوهیدرات‌ها در بافت‌های گیاهی باعث جذب بیشتر این باکتری می‌شود. توانایی بیماری‌زایی در باکتری *E. amylovora* به توانایی تولید اگزوپلی‌ساکاریدهای مخصوص (Bellemann *et al.*, 1994) جهت ایجاد واکنش فوق‌حساسیت[1] در گیاهان غیر میزبان است (Barny *et al.*, 1990). همچنین این باکتری به متابولیسم سوربیتول در گیاهان میزبان نیز نیاز دارد (Aldridge *et al.*, 1997). گیاهان خانواده رزاسه حاوی سوربیتول و ساکارز به‌عنوان منابعی از کربوهیدرات‌های قابل انتقال هستند (Grant & ap Rees, 1981). از سوی دیگر pH سلولی گیاه میزبان نیز روی رشد و تکثیر باکتری آتشک مؤثر است بطوری‌که ماندگاری باکتری در محیط‌کشت در دامنه pH بین ۵ تا ۸/۵ ارزیابی شده است (Billing, 1974; Billing *et al.*, 1961;Ark, 1973). با توجه به اینکه، بیماری آتشک به‌عنوان یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های درختان میوه دانه‌دار شناخته شده و درخت گلابی از حساس‌ترین میزبان‌های این بیماری محسوب می‌گردد، آزمایش‌های فوق با هدف بررسی تأثیر پایه بر میزان حساسیت و تغییرات بیوشیمیایی برخی ارقام گلابی به بیماری آتشک انجام شد.

1- Hypersensitive

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این آزمایش طی سال‌های ۱۳۹۹-۱۴۰۰ در مجموعه گلخانه‌های تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و درختان پنج ساله باغات پایه رویشی آستان قدس رضوی مشهد و برخی از باغ‌های شهرستان نیشابور انجام شد. آزمایش در باغ بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی بر روی درختان شامل پایه‌های (درگزی[1] و پیردوارف[2]) و رقم (کوشیا[3] و درگزی) در پنج تکرار اجرا گردید. در گلخانه نیز آزمایشات به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با متغیرهای پایه (درگزی و پیردوارف) و ارقام گلابی (درگزی و کوشیا) در چهار زمان با سه تکرار برای اندازه‌گیری مقیاس گاردنر و نمونه‌برداری برای آزمایشات اندازه‌گیری ساکارز، سوربیتول و pH بود. در هر تکرار یک نهال به‌صورت جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفت. در اسفند ۱۳۹۹، نهال‌های گلابی دوساله که قبلاً پیوند بر روی پایه‌های رویشی انجام شده بود ولی به‌منظور رشد شاخه‌های فرعی در پیوندک، نهال‌های ریشه لخت به گلدان‌های ۲۰ کیلویی حاوی مخلوطی از خاک، ماسه و خاک برگ به نسبت‌های مساوی منتقل و در شرایط گلخانه‌ای (فتوپریود معمولی، دمای ۵ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵-۷۰ درصد دارای سیستم رطوبت‌ساز و خنک‌کننده) نگهداری شدند. به‌منظور تحریک رشد شاخه‌های فرعی، کلیه نهال‌ها پس از انتقال به گلدان و قبل از آلوده‌سازی به باکتری عامل آتشک، از ارتفاع ۷۰ سانتی‌متری سربرداری شدند. دو ماه پس از انتقال، شاخه‌هایی به طول تقریبی ۴۵-۳۰ سانتی‌متر جهت تزریق در نظر گرفته شد.

بررسی میزان آلودگی باغات گلابی به آتشک بر اساس سیستم USDA

تحت شرایط طبیعی آلودگی برا ساس سیستم گروه‌بندی USDA تعداد چهار نوع ترکیب متفاوت شامل دو پایه درگزی (مقاوم به آتشک)، پیردوارف (نیمه مقاوم به آتشک) و دو رقم کوشیا (حساس به آتشک) و درگزی (مقاوم به آتشک)، در باغ نمونه آستان قدس رضوی و برخی از باغ‌های شهرستان نیشابور مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱).

این روش به گونه‌ای طراحی شده است که بر اساس یک درجه بندی نزولی از ۱۰ تا ۱ و بصورت برآورد چشمی از خسارت می‌باشد. نحوه قرار دادن ترکیب‌های پیوندی مورد تحقیق در هر یک از گروه‌های ده‌گانه براساس شدت خسارت، آلودگی و پیشرفت بیماری در اندام‌های مختلف گیاه بر اساس (جدول ۱) انجام شد (Van Der Zwet & Keil, 1979).

بعد از تعیین درجه‌بندی نزولی ۱۰گانه، میانگین اعداد که شدت آلودگی آتشک را تعیین می‌کند، بر اساس سیستم نمره‌دهی پنجگانه GRIN[4](جدول ۲) به یک درجه‌بندی و یا نمره تبدیل شده که براساس آن می‌توان درختان را در گروه‌های مختلف جای‌گذاری نمود (Thomas & Jones, 1992). تحت شرایط آلودگی با استفاده از سیستم آلودگی USDA در باغات مزرعه نمونه آستان قدس رضوی مشهد و باغات نیشابور تعداد دو رقم گلابی حساس کوشیا و مقاوم درگزی که هر دو بر روی پایه‌های نیمه‌حساس پیردوارف و مقاوم درگزی پیوند شده بررسی شدند.

تزریق عامل بیماری و نمونه‌گیری

باکتری مولد بیماری آتشک (*E. amylovora*) از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. به‌منظور آماده سازی مایه تلقیح مورد نیاز، از کشت‌های شب‌گذران[5] باکتری در محیط‌کشت لوریا برتانی براث[6] با کدورت (OD[7]) حدود ۲۰ در دمای ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. غلظت بهینه مایه باکتری با توجه به حداقل احتمال فرار (کمترین غلظت مورد نیاز باکتری که برای ایجاد بیماری‌زایی مناسب است) از بیماری در سرشاخه‌ها بر اساس گزارشات تعیین شد (Sahin *et al.*, 2020). به این ترتیب مایه باکتری به میزان یک میلی‌لیتر به ازای هر سرشاخه و با قرار دادن دست و پنبه در زیر سرسرنگ به‌منظور جلوگیری از جاری شدن باکتری در طول شاخه تزریق شد (شکل ۲- (a ,b)). بلافاصله پس از تزریق باکتری، آب‌پاشی سرشاخه‌ها با مه‌پاش حاوی آب مقطر انجام و کف گلخانه به‌مدت یک ماه در طول روز مرطوب نگه داشته شد. همچنین جهت حفظ بهتر رطوبت نایلون‌های پانچ شده در اطراف هر نهال پیچیده شد. رطوبت هوای گلخانه در گرم‌ترین ساعات روز حداقل ۸۰ درصد جهت انتقال و گسترش بیماری در گیاه بود که نهال را مستعد پذیرش باکتری می‌کرد. دمای گلخانه و خصوصاً دمای سطح برگ‌ها با استفاده از آبپاشی متراکم در اواسط روز در محدوده ۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. به‌منظور اطمینان از آلودگی شاخه‌ها، تزریق مجدد آنها ۱۲ ساعت بعد از اولین تزریق تکرار شد (شکل ۲-(c)).

1- Dargazi
2- Pyrodwarf
3- Koshia

4- Germplasm resources information network
5- Overnight
6- Luria-Bertani medium
7- Optical density



شکل ۱- بررسی چشمی آلودگی به بیماری در برگ‌ها و شاخه‌های درختان موجود در باغات بر اساس سیستم USDA

Figure 1- Visual examination of disease contamination in leaves and branches of trees in orchards based on the USDA system

جدول ۱- درجه‌بندی نزولی گروه‌های ۱۰ گانه شدت خسارت آتشک در سیستم USDA

Table 2- Descending grading of 10 groups of fire blight damage severity in the USDA system (Oitto *et al*., 1970)

شدت آتشک Fire blight intensity	تعاریف Definitions	گروه Group
0	عدم ظهور علائم آتشک بر روی درخت Absence of fire blight symptoms on the tree	10
1-3	ظهور علائم بیماری فقط بر روی شاخه‌های فصل جاری The appearance of disease symptoms only on the branches of the current season	9
4-6	ظهور علائم بر روی چوب‌های ۱تا ۲ ساله Symptoms appear on 1-2 year old wood	۸
7-12	ظهور علائم بر روی چوب‌های ۳-۱ ساله و بالای ۱/۸ فوقانی درخت Symptoms appear on 1-3-year-old wood and above the upper 1.8 of the tree	7
13-25	ظهور علائم بر روی چوب‌های ۳-۲ ساله و بالای ۱/۴ فوقانی درخت Symptoms appear on 2-3-year-old wood and above the upper 1.4 of the tree	6
26-50	ظهور علائم بر روی چوب‌های ۳ ساله و بر روی ۱/۲ فوقانی درخت Symptoms appear on 3-year-old wood and on the upper 1.2 of the tree	5
51-75	ظهور علائم بر روی چوب‌های پیرتر و پایین ۱/۲ تحتانی درخت Symptoms appear on older wood and lower 1.2 of the tree	4
76-88	ظهور علائم بر روی چوب‌های پیرتر و پایین ۱/۴ تحتانی درخت Symptoms appear on older wood and lower 1.4 of the tree	3
89-99	ظهور علائم روی تنه درخت The appearance of symptoms on the trunk of the tree	2
100	مرگ کامل درخت Complete death of the tree	1

جدول ۲- سیستم نمره‌دهی پنج گانه GRIN و گروه‌های واکنش در مقابل بیماری آتشک (Thomas & Jones, 1992)

Table 3- GRIN five scoring system and reaction groups against fire blight disease (Thomas & Jones, 1992)

مفهوم (گروه) Concept (group)	کد GRIN GRIN code	میانگین گروه شدت آلودگی Average pollution intensity group
خیلی مقاوم Very resistant	1	9.8-10
نیمه مقاوم Semi resistant	2	8.5-9.7
حد واسط Intermediate	3	6.6-4.8
نیمه حساس Semi-sensitive	4	5.1-6.5
خیلی حساس Very sensitive	5	0-5

اندازه‌گیری درصد شاخه‌های دارای علائم سوختگی در نهال‌های گلخانه

میزان حساسیت در ارقام با استفاده از درصد بلایت در بخش هوایی طبق جدول ۳ تعیین شد. طبق این روش پس از تزریق عامل بیماری‌زا به گیاهان درصد شاخه‌ها و بخش‌های هوایی بلایت شده برای هر نهال کشت شده در گلخانه طی روزهای صفر تا هجدهم اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری میزان ساکارز بافت برگ نهال‌های گلخانه‌ای

برای اندازه‌گیری این قند از معرف آنترون استفاده شد، که ۰/۱ گرم بافت برگ با ۹۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط و سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر از آن، به پنج میلی‌لیتر معرف آنترون اضافه شد. پس از آن نمونه یاد شده به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در نهایت مقدار جذب نور آن در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد (Miller, 1959()).

اندازه‌گیری مقدار کمی و کیفی سوربیتول بافت برگ نهال های گلخانه‌ای

در این روش ابتدا مقداری از بافت برگ نهال‌های مورد نظر، در لوله یک و نیم میلی‌لیتری لیتری ریخته شد. پس از انجام سانتریفیوژ به‌منظور رسوب سلول‌ها، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی را با ۴۹۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از این مخلوط با یک میلی‌لیتر سدیم متاپریودات که در اسیدکلریدریک حل شده، مخلوط و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس دو میلی‌لیتر رامنوز به آن اضافه شد. مخلوط یاد شده به‌مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۵۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از سرد کردن، مقدار سوربیتول تولید شده در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه گیری شد (Bok *et al*., 1977).

سنجش pH بافت برگ نهال‌های گلخانه

میزان تغییرات pH بر میزان تکثیر باکتری در محیط‌کشت و بافت‌های باکتری تأثیرگذار است، بطوری‌که تغییر pH بافت در محیط‌کشت باکتری و همچنین سلول باعث تغییر میزان فعالیت در سلول‌های باکتری می‌شود و این تغییرات باعث کمتر یا بیشتر شدن فعالیت باکتری در محیط اطراف خود می‌گردد. به‌منظور تعیین میزان pH بافت‌ها ابتدا از روز صفر تا ۱۲ پس از آلودگی مقدار برگ‌های تزریق شده عامل بیماری‌زا به نهال‌ها در گلخانه جمع‌آوری شد و بعد از عصاره‌گیری از برگ‌ها بوسیله دستگاه pH متر دیجیتالی میزان pH بافت‌های نمونه‌گیری شده اندازه‌گیری شد. زیرا اندازه‌گیری pH تفاوت در رشد باکتری در محیط‌هایی با اسیدیته مختلف را نمایان می کند (Shrestha *et al*., 2005).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از طرح بلوک کامل تصافی در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از نرم‌افزار جامپ و با استفاده از آزمون LSD استفاده شد.

نتایج و بحث

سیستم گروه‌بندی USDA

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) اثرات ساده و متقابل رقم و پایه بر شدت آلودگی ایجاد شده در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. در اوائل و اواسط و اواخر تابستان پس از پایان پیشرفت علائم بیماری و شانکرها روی ارقام و پایه‌های مختلف درختان شدت آلودگی در درختان بر اساس جدول ۲ مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل از جدول ۵ رقم و پایه کوشیا/درگزی (با میانگین ۸/۶) میزان مقاومت بیشتری را نسبت به رقم و پایه کوشیا/پیردوارف (با میانگین ۲/۵) نشان داد. همچنین بین رقم و پایه درگزی/پیردوارف (با میانگین ۹/۸) و درگزی/درگزی (با میانگین ۱۰) اختلاف معنی‌داری نداشت. بر اساس کد گرین جدول ۵ رقم و پایه کوشیا/پیردوارف نیمه حساس، کوشیا/درگزی نیمه مقاوم و ارقام و پایه‌های درگزی/پیردوارف و درگزی/درگزی خیلی مقاوم نسبت به بیماری آتشک دسته‌بندی شدند. رقم درگزی رقمی مقاوم به بیماری آتشک است و روی هر پایه‌ایی مقاومت خود را حفظ می‌کند حال آنکه اگر به‌عنوان پایه استفاده شود می‌تواند تا حدودی این مقاومت را به رقم حساس کوشیا منتقل کند. در پژوهش‌های مشابه در مقدونیه و ایالت میشیگان آمریکا نیز وجود چنین اختلاف معنی‌داری در بررسی باغات به این روش نسبت به مقاومت به آتشک در ارقام مورد آزمایش گزارش شده است (Thomas & Jones, 1992Ristevski & Ristevska, 1996 ;).

اندازه‌گیری مقدار حساسیت (درصد بلایت شده)

بعد از مایه‌زنی باکتری، بروز علائم آلـودگی در سرشاخه‌هـا بیانگر موفقیـت آمیز بـودن آلوده‌سازی سرشاخه‌ها بود. علائم بیماری مانند نکروز و بافت پژمرده در برگ‌ها و نوک ساقه مشاهده شد. نهال‌ها سه روز پس از تلقیح قهوه‌ای شدند و آلودگی به سرعت از طریق شاخه‌ها، گره‌ها و دمبرگ‌ها به تمام رگبرگ‌های برگ پیشرفت کرد. بر همین اساس در شاخه‌هایی که تزریق باکتری صورت گرفته بود میزان پیشرفت بیماری در هر شاخه نسبت به طول کل شاخه اندازه‌گیری شد (شکل ۳).



شکل ۲- (a ,b) روش تزریق عامل بیماریزا، (c) شرایط نگهداری نهال‌های گلابی و ایجاد بیماری به گیاهان در گلخانه با حفظ رطوبت

Figure 2- (a,b) The method of injecting the pathogen, *Erwinia amylovora* (c) The conditions of pear seedling maintaining and inducing disease to the plants in the greenhouse with the humidity

جدول ۳- مقیاس گاردنر برای تعیین میزان حساسیت به بلایت نهال‌های گلابی (Şahin *et al*., 2020)

Table 3– Gardner's scale for determining blight sensitivity of pear seedlings (Şahin *et al*., 2020)

سطح حساسیت Sensitivity level	درصد بلایت در بخش هوایی The percentage of blight in the air sector
بسیار مقاوم Very resistant	0-10
مقاوم Resistant	11-30
نسبتاً حساس Relatively sensitive	31-50
حساس Sensitive	51-90
بسیارحساس Very sensitive	91-100

جدول ٤- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر پایه‌های متفاوت بر شدت آلودگی دو رقم گلابی

Table 4- ANOVA (mean square) for the effect of different rootstocks on the contamination intensity of two pear cultivars

منابع تغییرات Sources of change	درجه آزادی Degree of freedom	شدت آلودگی Intensity of pollution
بلوک Block	4	0.006^{ns}
رقم Cultivar	1	16.20**
پایه Rootstock	1	45**
رقم ×پایه Rootstock×Cultivar	1	12.80**
خطای آزمایش Experimental error	16	0.29

اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده و متقابل ترکیب‌های پیوندی و زمان در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد (جدول۶). به این ترتیب علائم بیماری آتشک در رقم و پایه درگزی/درگزی حتی ۱۸ روز پس از تلقیح آلودگی بر روی سرشاخه‌ها مشاهده نشد. اولین علائم آلودگی در روز سوم در رقم کوشیا (بر روی هر دو پایه درگزی و پیردوارف) شناسایی شد (۱۰٪بلایت). در رقم و

پایه درگزی/پیرودوارف، علائم بسیار کمی از آلودگی در روز ششم (۱۰٪ بلایت) ظاهر شد و این میزان تا روز هجدهم پس از آلودگی ثابت ماند. بیشترین میزان آلودگی در رقم و پایه کوشیا/پیردوارف در روز هجدهم (۵۰٪ بلایت) است (جدول ۷). بطور کلی در مقیاس گاردنر طول شاخه‌های بلایت شده (SLB[1]) نسبت به طول کل شاخه در نهال‌هایی که به باکتری آتشک آلوده شده میزان حساسیت یا مقاومت آنها را در برابر آتشک را مشخص می‌کند، که هر چه درصد بلایت در شاخه‌ها بیشتر باشد میزان مقاومت آن نسبت به بیماری آتشک کمتر در نظر گرفته می‌شود و درجه‌بندی آنها را از حساس تا مقاوم مورد بررسی قرار می‌دهد از همین رو استفاده از پایه‌ها و میان پایه‌های مقاوم بصورت تجربی را برای مقاومت به بیماری مورد تأکید قرار می‌دهد (Kellerhals *et al*., Layne & Quamme, 1975; 2012; Şahin & Mısırlı, 2016; (Evrenosoğlu *et al*., 2019; Şahin *et al*., 2019.

مجموع قندهای ساکارز و سوربیتول

مقدار این قندها در رقم درگزی پیوندی مقاوم تا روز دوازدهم بعد از القای باکتری به‌طور جزئی کاهش یافت، میزان این قندها در رقم و پایه کوشیا/پیردوارف با شدت پیشرفت باکتری در بافت‌ها و مصرف قندها از روز ششم تا دوازدهم از۳۰ میلی‌گرم به ۲۰ میلی‌گرم کاهش یافت اما در رقم و پایه درگزی/درگزی بدلیل عدم نفوذ باکتری به گیاه بدلیل مقاومت ساختاری و بیوشیمیایی که در این رقم در برابر این بیماری دارد میزان قندها ثابت ماند. این قندها در مورد رقم و پایه کوشیا/درگزی در مقابل رقم و پایه کوشیا/پیردوارف از ابتدا بیشتر بود که با گذشت زمان از روزششم به بعد در هردو رقم و پایه‌ها کاهش یافت (شکل ۴).

در پژوهش‌های متفاوت لزوم استفاده از قندهای سوربیتول و ساکارز برای باکتری عامل آتشک در گیاهان مختلف اثبات شده است. باکتری عامل آتشک به قند نیاز دارد زیرا قندهای موجود در گیاه را مصرف و اگزوپلی‌ساکاریدی جهت تولید بیوفیلم[2](اجتماع باکتری در یک محیط) ایجاد می‌کند. باکتری آتشک در بافت گیاه هم از ساکارز و هم از سوربیتول به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کند و در محیط‌کشت آگار با ۴۰ درصد ساکارز بخوبی رشد و گسترش پیدا می کند (Gross *et al*., 1992). همچنین بیماری‌زایی باکتری عامل آتشک به تولید اگزوپلی ساکارید آمیلووران بستگی دارد (Bernard *et al*., 1993; Bellemann & Geider, 1992).

گیاهان خانواده رزاسه حاوی سوربیتول و ساکارز به‌عنوان منابعی از کربوهیدرات‌های انتقالی و ذخیره‌ایی مورد استفاده در سلول هستند (Grant & Rees, 1981). باکتری عامل آتشک می‌تواند گلوکز را از ساکارز آزاد کند (Gross *et al*., 1992). توانایی متفاوت برای متابولیسم ساکارز و سوربیتول موجود در سلول‌های گیاهی برای باکتری در سلول میزبان در میزان بیماری‌زایی باکتری عامل آتشک در سیب و گلابی تأثیرگذار است، بطوری‌که باکتری با مصرف این کربوهیدرات‌ها به رشد خود در محیط داخل بافت گیاهان ادامه می دهد (Willis *et al*., 1991Barny *et al*., 1990;). به‌همین دلیل در بافت گیاه با نفوذ باکتری به داخل بافت‌ها مخصوصا در رقم و پایه کوشیا/درگزی و رقم و پایه کوشیا/پیردوارف با مصرف این قندها توسط باکتری با گذشت زمان میزان آن رو به کاهش گذاشته تا به ثبات برسد. اما تفاوت معنی‌داری در میزان کاهش در دو پایه مختلف با ارقام یکسان دیده می‌شود که نشان‌دهنده تأثیر پایه بر مقاومت ارقام می‌باشد.

اندازه‌گیری pH بافت گیاه

pH بافت برگ رقم کوشیای پیوند شده روی پایه پیردوارف از روز صفر تا دوازدهم ثابت نبوده بطوری‌که در روز سوم از ۶ به ۷/۲ رسید و در روزهای ششم و دوازدهم روی ۶/۲ ثابت ماند. در رقم و پایه کوشیا/درگزی نیز این روند مشاهده شد. به این ترتیب pH در روزهای ۰، ۳، ۶ و ۱۲ به‌ترتیب برابر ۵/۵، ۶/۵، ۵/۳ و ۵/۲ اندازه گیری شد. این در حالی است که در بافت برگ‌های رقم و پایه‌های درگزی/پیردوارف و درگزی/درگزی این روند تقریبا ثابت و بین ۵ تا ۵/۵ بوده است. این تفاوت در اسیدیته بافت‌ها می‌تواند ناشی از حساسیت بالاتر باشد به این دلیل که در بافت‌های حساس‌تر به باکتری با زخمی شدن و از بین رفتن سلول‌های آنها بدلیل مرگ برنامه ریزی سلول[3] که طی آن سلول‌های سالم برای جلوگیری از پیشرفت بیماری خود را نابود می‌کنند، و برای مقابله با باکتری میزان pH بافت‌ها مقداری تغییر می‌کند. ولی این تغییرات در بافت‌های حساس پیوند شده بر روی پایه مقاوم در مقایسه با بافت‌های حساس پیوند شده بر روی پایه نیمه‌حساس کمتر مشاهده شد (شکل ۵).

همه سلول‌های گیاهی پروتون‌ها را از داخل سلول و از طریق غشا به فضای بین سلولی منتقل می‌کنند. این شیب بار الکتریکی انرژی لازم را برای املاح برای ورود به سلول‌هاست (Heldt, 1997). در بیشتر گیاهان، فعالیت پمپ غشاء H+-ATPase در سیتوپلاسم pH را بین ۷/۳–۷/۶ و pH آپوپلاست را حدود ۵/۵ تنظیم

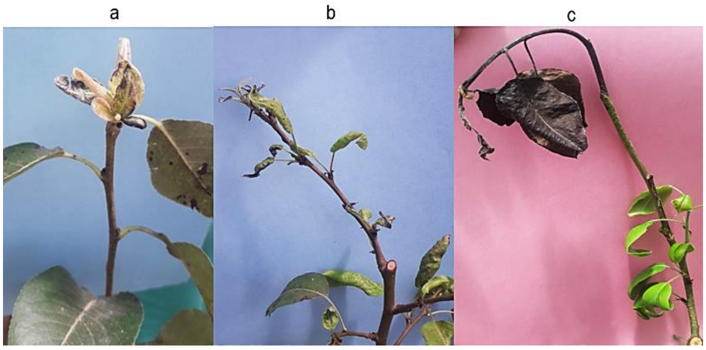
1- Shoot length blighted
2- Biofilm
3- Apoptosis

می‌کند (Kurkdjian & Geum, 1989). با نفوذ پروتین هارپین باکتری *E. amylovora* به داخل غشا سلول باعث نشت پتاسیم به خارج سلول، پراکسیداسیون لیپیدها و همچنین از کار افتادن پمپ‌های سطح غشا و قلیایی شدن محیط آن می‌شود (Brisset & Paulin, 1992). بر این اساس در سلول‌های گیاهی آلوده شده توسط *E. amylovora* نشت الکترولیت‌ها و سایر مواد آلی از داخل سلول به محیط بین سلولی و متعاقب آن تغییرات pH رخ می‌دهد که البته این تغییرات در سلول‌های غیر مقاوم و ناسازگار بیشتر است (Vanneste, 1995).

جدول ۵- شدت آلودگی ارقام پیوندی گلابی در سیستم USDA

Table 5- The contamination intensity of grafted pear cultivars in the USDA system

رقم/پایه Rootstock/Cultivar	میانگین گروه شدت آلودگی Average pollution intensity group	کد GRIN GRIN code	مفهوم گروه بر اساس کد GRIN Group concept based on GRIN code
کوشیا/پیردوارف Koshia/Pyrodwarf	2.5c	4	نیمه حساس Semi-sensitive
کوشیا/درگزی Koshia/Dargazi	8.6b	2	نیمه مقاوم Semi resistant
درگزی/پیردوارف Dargazi/Pyrodwar	9.8a	1	نسبتا مقاوم Relatively resistant
درگزی/درگزی Dargazi/Dargazi	10a	1	خیلی مقاوم Very resistant



شکل ۳- علائم اولیه و نهایی بیماری در سرشاخه‌های درخت گلابی. (a) تغییر رنگ اولیه، (b) قهوه‌ای شدن، (c) بلایت کامل

Figure 3- Initial and final symptoms of the disease in the pear tree branches. (a) initial discoloration, (b) browning, (c) complete blight

جدول ٦- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر پایه‌ها و ارقام متفاوت گلابی بر درصد بلایت در چهار مرحله زمانی پس از آلودگی

Table 6- ANOVA (mean squares) for the effect of different pear rootstock and cultivars on the blight percentage in four time stages after contamination

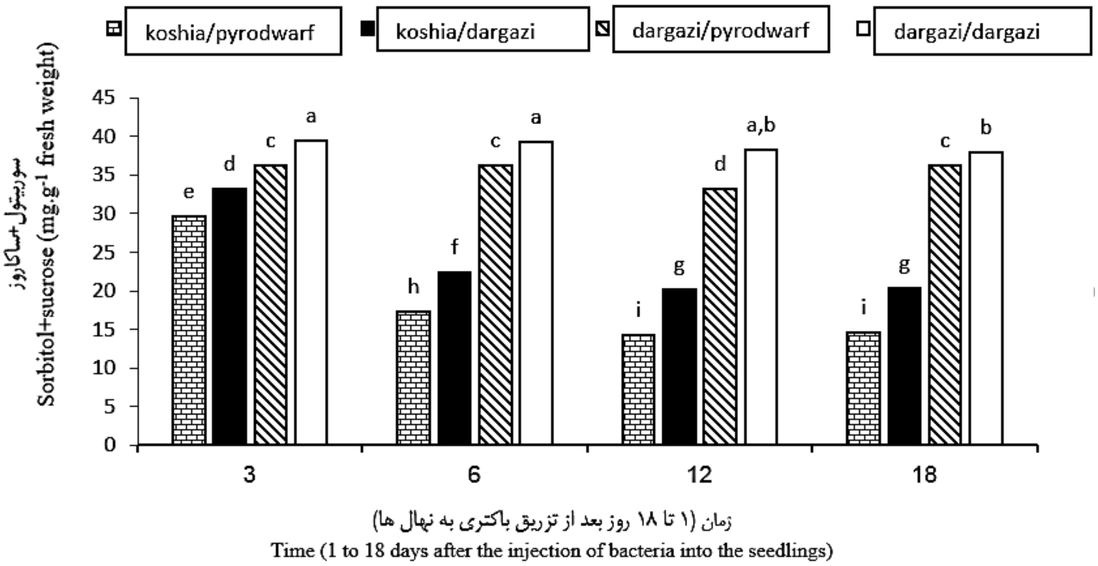
منابع تغییرات Sources of change	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean square
ترکیبات پیوندی Grafted compounds	3	2642**
زمان Time	3	842**
ترکیبات پیوندی ×زمان Time× Grafted compounds	9	258**
خطا Error	32	40.62

اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٪۱

جدول ۷- برهم‌کنش ترکیب‌های پیوندی گلابی در مراحل زمانی متفاوت بر درصد بلایت

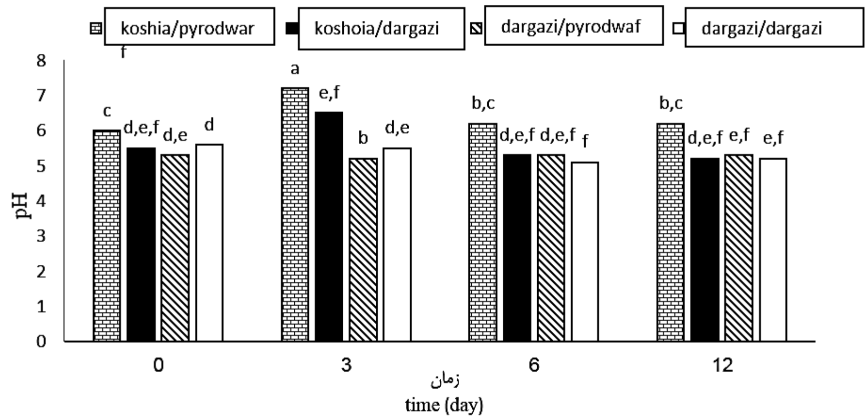
Table 7- The interaction of grafted pear combinations in different time stages on blight percentage blight

ترکیبات پیوندی Grafted compounds	روز نمونه‌برداری Sampling day			
	3	**6**	**12**	**18**
کوشیا/پیردوارف Koshia/Pyrodwarf	10 cd	20 bc	50 a	50 a
کوشیا/درگزی Koshia/Dardazi	10 cd	25 b	30 b	30 b
درگزی/پیردوارف Dargazi/Pyrodwarf	0 d	10 cd	10cd	10 cd
درگزی/درگزی Dargazi/Dargazi	0 d	0 d	0 d	0 d



شکل ٤- مجموع قندهای ساکارز + سوربیتول ترکیب‌های مختلف پیوندی گلابی طی زمان

Figure 4-Total sugars of sucrose + sorbitol of different pear grafted combinations over time



شکل ۵- تغییرات pH بافت‌های برگ ترکیب‌های مختلف پیوندی گلابی نسبت به زمان

Figure 5- pH changes of leaf tissues of different pear grafting combinations over time

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که بین ترکیب‌های پیوندی مطالعه شده درجات مختلفی از مقاومت به بیماری آتشک وجود دارد که بیانگر وجود پتانسیل کافی برای برنامه به‌نژادی و به‌زراعی گلابی جهت مقاومت به این بیماری است. رقم درگزی هم در شرایط باغی و هم گلخانه‌ایی درجه بسیار بالایی از مقاومت را نسبت به بیماری آتشک دارد. به‌طور کلی پایه مقاوم درگزی تا حدودی اثر مقاومت خود را بر روی رقم کوشیا حساس می‌گذارد به‌طوری‌که میزان مقاومت ترکیب پیوندی کوشیا/درگزی بیشتر از میزان مقاومت ترکیب پیوندی کوشیا/پیردوارف است. البته ذکر این نکته ضروری است که تکرار این آزمایشات در طی سالیان مختلف با رطوبت متفاوت که عامل اصلی همه‌گیری بیماری است باعث بدست آمدن نتایج دقیق‌تر اثر پایه بر میزان مقاومت پیوندک به بیماری آتشک است. این مقاومت به‌صورت بیوشیمیایی در بافت نهال اعمال می‌شود. اما چیزی که در این آزمایش پر واضح است اثر مستقیم پایه مقاوم بر مقاومت رقم به بیماری آتشک است. رقم درگزی اغلب در شمال‌شرق کشور کشت می‌گردد، اما از نظر کیفیت میوه مطلوبیت زیادی ندارد و عمدتا از بذر آن جهت تولید پایه بذری برای سایر ارقام گلابی استفاده می‌شود. همچنین در برنامه‌های به‌نژادی و به‌زراعی گلابی، رقم درگزی می تواند به‌عنوان یک والد برای انتقال ژن مقاومت به بیماری مورد استفاده قرار بگیرد.

References

1. Abdollahi, H., Rugini, E., Ruzzi, M., & Muleo, R. (2004). *In vitro* system for studying the interaction between *Erwinia amylovora* and genotypes of pear. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 79*(2), 203-212. https://doi.org/10.1007/s11240-004-0661-0
2. Aldridge, P., Metzger, M., & Geider, K. (1997). Genetics of sorbitol metabolism in *Erwinia amylovora* and its influence on bacterial virulence. *Molecular Genetics and Genomics*, *256*, 611–619. https://doi.org/10.1007/s004380050609
3. Aleksandrova, D., & Dimitrova, N. (2021). *The reaction of pear cultivars grafted on pear and quince rootstocks after artificial inoculation of Erwinia amylovora*. In IV International Symposium on Horticulture in Europe-SHE2021 1327 (pp. 321-328). https://doi.org/10.17660/actahortic.2021.1327.43
4. Ark, P.A. (1973). Variability in the fire blight organism *Erwiniya amylovora*. *Phytopathology*, *27*, 1-28.
5. Azarabadi, S., Abdollahi, H., Torabi, M., Salehi, Z., & Nasiri, J. (2017). ROS generation, oxidative burst and dynamic expression profiles of ROS-scavenging enzymes of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) in response to *Erwinia amylovora* in pear (*Pyrus communis* L). *European Journal of Plant Pathology*, *147*(2), 279-294. https://doi.org/10.1007/s10658-016-1000-0
6. Barny, M. A., Guinebretiere, M.H., Marcais, B., Coissac, E., Paulin, J.P., & Laurent, J. (1990). Cloning of a large gene cluster involved in *Erwinia amylovora* CFBP1430 virulence. *Molecular Microbiology*, *4*, 777–786. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1990.tb00648.x
7. Bellemann, P., Bereswill, S., Berger, S., & Geider, K. (1994). Visualization of capsule formation by *Erwinia amylovora* and assays to determine amylovoran synthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, *16*, 290–296. https://doi.org/10.1016/0141-8130(94)90058-2
8. Bellemann, P., & Geider, K. (1992). Localization of transposon insertions in pathogenicity mutants of *Erwinia amylovora* and their biochemical characterization. *The Journal of General Microbiology*, *138*, 931–940. https://doi.org/10.1099/00221287-138-5-931
9. Bernhard, F., Coplin, D.L,. & Geider, K. (1993). A gene cluster for amylovoran synthesis in *Erwinia amylovora*: characterization and relationship to cps genes in *Erwinia stewartii*. *Molecular Genetics and Genomics*, *239*, 158–168. https://doi.org/10.1007/bf00281614
10. Billing, E. (1974). The effect of temperature on the fire blight pathogene, *Erwiniya amylovora*. *Journal of Applied Bacteriology*, *37*, 643-648.
11. Billing, E., Baker, L., A.E., Cross, J.E., & Garret, C.M.E. (1961). Characteristics of English isolation of *Erwiniya amylovora*. *Journal of Applied Bacteriology*, *24*, 195-211.
12. Brisset, N.M., & Paulin, J.P. (1992). A reliable strategy for the study of disease and hypersensitive reaction induced by *Erwinia amylovora*. *Plant Science*, *85*, 171–177. https://doi.org/10.1016/0168-9452(92)90113-z
13. Choi, H.J., Kim, Y.J., Lim, Y.J., & Park, D.H. (2019). Survival of *Erwinia amylovora* on surfaces of materials used in orchards. *Research in Plant Disease*, *25*(2), 89-93. https://doi.org/10.5423/rpd.2019.25.2.89
14. Dagher, F., Olishevska, S., Philion, V., Zheng, J., & Déziel, E. (2020). Development of a novel biological control agent targeting the phytopathogen *Erwinia amylovora*. *Heliyon*, *6*(10), e05222. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05222

15. Doolotkeldieva, T., & Bobusheva, S. (2016). Fire blight disease caused by *Erwinia amylovora* on Rosaceae plants in Kyrgyzstan and biological agents to control this disease. *Advances in Microbiology*, *6*(11), 831. https://doi.org/10.4236/aim.2016.611080
16. Evrenosoğlu, Y., Mertoğlu, K., Bilgin, N.A., Misirli, A., & Özsoy, A.N. (2019). Inheritance pattern of fire blight resistance in pear. *Scientia Horticulturae, 246*, 887–892. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.069
17. Grant, C.R., & Rees, T. (1981). Sorbitol metabolism by apple seedlings. *Phytochemistry, 20*, 1505–1511. https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)98521-2
18. Gross, M., Geier, G., Rudolph, K., & Geider, K. (1992). Levan and levansucrase synthesized by the fireblight pathogen *Erwinia amylovora*. Physiol. *Molecular Plant Pathology, 40*, 371–381. https://doi.org/10.1016/0885-5765(92)90029-u
19. Jakab-Ilyefalvi, Z., Platon, I., & Festila, A. (2012). Fire blight susceptibility of some pear varieties (*Erwinia amylovora*, Burill). *Fruit Growing Research*, 28.
20. Heldt, H.W. (1997). *Plant biochemistry and molecular biology*. Oxford University Press, New York.
21. Kellerhals, M., Szalatnay, D., Hunziker, K., Duffy, B., Nybom, H., Ahmadi-Afzadi, M., Höfer, M., Richter, K., & Lateur, M. (2012). European pome fruit genetic resources evaluated for disease resistance. *Trees, 26*(1), 179–189. https://doi.org/10.1007/s00468-011-0660-9
22. Korba, J., Šillerová, J., & Kůdela, V. (2008). Resistance of apple varieties and selections to *Erwinia amylovora* in the Czech Republic. *Plant Protection Science, 44*(3), 91-96. https://doi.org/10.17221/19/2008-pps
23. Khan, M.A., Zhao, Y.F., & Korban, S.S. (2012). Molecular mechanisms of pathogenesis and resistance to the bacterial pathogen *Erwinia amylovora*, causal agent of fire blight disease in Rosaceae. *Plant Molecular Biology Reporter, 30*(2), 247-260. https://doi.org/10.1007/s11105-011-0334-1
24. Layne, R.E.C., & Quamme, H.A. (1975). Pears. In J. Janick & J. N. Moore (Eds.), *Advances in fruit breeding* (pp. 38–70). Purdue University Press, West Lafayette.
25. Kurdjian, A., & Guem, J. (1989). Intracellular pH: measurement and importance in cell activity. Ann. Rev. Plant Physiol. *Plant Molecular Biology, 40*, 271–303. https://doi.org/10.1146/annurev.pp.40.060189.001415
26. Mikiciński, A., Puławska, J., Molzhigitova, A., & Sobiczewski, P. (2020). Bacterial species recognized for the first time for its biocontrol activity against fire blight (*Erwinia amylovora*). *European Journal of Plant Pathology, 156*(1), 257-272. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1948157/v1
27. Millier, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry, 31*(3), 426-428. https://doi.org/10.1021/ac60147a030
28. Risteveski, B.P., & Risteveska, A.B. (1996). Resistance of pear varietties to fire blight in the Ripoblic of Macedonia. *Acta Horticulturae, 311*, 256-259. https://doi.org/10.17660/actahortic.1996.411.79
29. Şahin, M., & Mısırlı, A. (2016). Ülkemizde ve dünyada ayva ıslahı çalışmaları. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 286–294. https://doi.org/10.17100/nevbiltek.211008
30. Şahin, M., Mısırlı, A., & Özaktan, H. (2019). Ege ve Doğu Marmara Bölgesi ayva plantasyonlarında ateş yanıklığı hastalığının değerlendirilmesi. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, *29*(1), 1-14. https://doi.org/10.18615/anadolu.568756
31. Şahin, M., Mısırlı, A., & Özaktan, H. (2020). Determination of fire blight (*Erwinia amylovora*) susceptibility in Turkey’s *Cydonia oblonga* Mill. Germplasm. *European Journal of Plant Pathology*, *157*(2), 227-237. https://doi.org/10.1007/s10658-020-01971-5
32. Salcedo, F., & Matta, B. (2000). Inflluence of nitrogen and calcium fertilizier on fire blight suceptibility of royal Gala apple tree. *Mississipi Agricultural and Experiment Station Research Rep*, *21*, 1-6.
33. Seidghasemi, A. (2014). Occurrence of fire blight caused by *Erwinia amylovora* on quince in Kerman Province.
34. Shrestha, R., Lee, S.H., Hur, J.H., & Lim, C.K. (2005). The effects of temperature, ph, and bactericides on the growth of *Erwinia pyrifoliae* and *Erwinia amylovora*. *Plant Pathology, 21*, 127–131. https://doi.org/10.5423/ppj.2005.21.2.127
35. Stošić, S., Ristić, D., Savković, Ž., Grbić, M.L., Vukojević, J., & Živković, S. (2021). *Penicillium* and *Talaromyces* species as postharvest pathogens of pear fruit (*Pyrus communis*) in Serbia. *Plant Disease, 105*(11), 3510-3521. https://doi.org/10.1094/pdis-01-21-0037-re
36. Tomas, T.M., & Jones, A.L. (1992). Severity of fire blight on apple cultivars an strains in Michigan. *Plant Disease, 76*, 1049-1052. https://doi.org/10.1094/pd-76-1049
37. Vander Zevit, T.W., Oitto, A., & Brooks, H.J. (1970). Scoring system for rating the severity of fire blight in pear. *Plant Disease, 54*, 835-839.
38. Vanneste, J.L. (1995). *Erwinia amylovora*. In: Singh US, Singh RP & Kohmoto K (eds) Pathogenesis and Host Specificity in Plant Diseases: Histopathological, Biochemical, Genetic and Molecular Bases, Vol. 1. (pp. 21–46).
39. VanderZevit, T., & Keli, H.L. (1979). *Fire blight , A Bacterial Disease of Rosaceous Plants*. Agric. Handbook, No. 510, U. S. Government printing office, washington D. C.

40. Venisse, J.S., Malnoy, M., Faize, M., Paulin, J.P., & Brisset, M.N. (2002). Modulation of defence responses of Malus during compatible and incompatible interactions with *Erwinia amylovora*. *Molecular Plant Microbe Interactions, 15*, 1204-1212. https://doi.org/10.1094/mpmi.2002.15.12.1204
41. Willis, D.K., Rich, J.J., & Hrabak, E.M. (1991). hrp genes of phytopathogenic bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 4*, 132–138. https://doi.org/10.1094/mpmi-4-132